



Universidad
Zaragoza

Trabajo fin de grado
6º curso Grado en medicina
Departamento de microbiología

Uso de BCG como terapia del cáncer de vejiga no invasivo

Autor: Félix Boria Alegre

Tutor: Carlos Martín Montañés

Indice

❖ <u>Resumen y abstract</u>	<u>2</u>
❖ <u>Material y métodos</u>	<u>2</u>
❖ <u>Nacimiento del BCG</u>	<u>3</u>
❖ <u>Evolución genética de las cepas de BCG</u>	<u>4</u>
❖ <u>Utilidad en el cáncer de vejiga</u>	<u>7</u>
❖ <u>La respuesta inmunológica</u>	<u>7</u>
❖ <u>Diferentes cepas de BCG y efectos secundarios</u>	<u>13</u>
❖ <u>Indicaciones de BCG</u>	<u>15</u>
❖ <u>Problemas de abastecimiento</u>	<u>17</u>
❖ <u>Nuevas cepas BCG</u>	<u>20</u>
❖ <u>Conclusión y perspectivas</u>	<u>22</u>
❖ <u>Bibliografía</u>	<u>23</u>

Resumen

El Bacilo de Calmette-Guérin (BCG) lleva ya casi 100 años en uso, primero como vacuna de la tuberculosis, y desde hace más de 30 años, como tratamiento intravesical del cáncer de vejiga no músculo invasor. En este Trabajo Fin de Grado se presenta una revisión del uso del BCG en el carcinoma superficial de vejiga. El trabajo estudia la evolución de las distintas cepas, las indicaciones, el mecanismo de acción, los efectos secundarios, las nuevas líneas de investigación y las posibles soluciones ante el problema actual de abastecimiento.

Palabras clave: *BCG, cepas de BCG, cáncer de vejiga, tumor superficial de vejiga, inmunoterapia con BCG.*

Abstract

The Calmette-Guérin Bacillus (BCG) has been used for 100 years, first as a vaccine for the tuberculosis, and since 30 years as intravesical therapy in the treatment of the non-muscle-invasive bladder cancer. This work presents a review of the BCG use in the treatment of the superficial bladder cancer. We study the strains evolution, the medical uses, the mechanisms of action, the side effects, the new lines of investigation and the solutions to resolve the actual problem of provision.

Keywords: *BCG, BCG strains, bladder cancer, superficial bladder tumor, BCG immunotherapy.*

Material y métodos

Se realizó una búsqueda en PubMed con las siguientes palabras clave: BCG, BCG strains, Bladder cáncer, Superficial bladder tumor

- Número de artículos encontrados: 1796
- Número de artículos revisados: 18, de los cuales:
 - 9 meta-análisis
 - 7 ensayos clínicos
 - 2 protocolos

Además, se revisó la guía clínica del tratamiento del tumor de vejiga no músculo infiltrantes y las fichas técnicas de los fármacos Vejicur y OncoTice en la página web del vademecum.

Nacimiento del BCG

El bacilo de Calmette Guérin nace a principios del siglo XX con los experimentos del microbiólogo Albert León Charles Calmette y el veterinario Camille Guérin para buscar una vacuna contra la tuberculosis. Para ello experimentaron en ganado con diferentes cultivos del bacilo tuberculoso bovino. De ahí, que la vacuna que finalmente acabaron utilizando, y sobre la cual data esta revisión, provenga del *Mycobacterium bovis*.

Para su cultivo Calmette usaba patatas impregnadas con bilis (glicerol), con la que conseguía evitar que se aglutinaran. Tras varios meses de cultivos, comprobó la aparición de una cepa de menor virulencia en inyecciones a cerdos de guinea. Apoyándose en la teoría de Pasteur de que la adaptación a los medios de laboratorio disminuía la virulencia de las bacterias, Calmette continuó cultivando la bacteria durante 13 años cambiando el medio de cultivo cada dos semanas (Un total de 230 cambios en todo el proceso).

Se dio cuenta de que la virulencia iba en descenso contrastándolo con inyecciones en ganado, hasta que en 1921, se empezó a estudiar la vacuna en seres humanos.

A partir de ahí, la vacuna comenzó a distribuirse a nivel mundial mediante el envío la cepa inicial de BCG, que una vez en su destino se seguía cultivando con el mismo método. Lo cual, originó múltiples variantes de bacilos que se siguieron cultivando independientemente unos de otros.

Así pues, cuando en 1960-70 se comienza a utilizar la liofilización para guardar muestras de los cultivos, nos encontramos con que todos esos años de cultivo habían originado múltiples cepas, diferentes entre sí, que llevaran el nombre de la ciudad, el país, o el investigador de cada una.(1)

Nomenclature of BCG strains		
Name of BCG strain used in this review	Synonyms used	Year strain obtained
Russia	Moscow	1924
Moreau	Brazil	1925
Japan	Tokyo	1925
Sweden	Göteborg	1926
Birkhaug		1927
Danish		1931
Prague	Czechoslovakian	1947 (from Danish)
Glaxo		1954 (from Danish)
Tice	Chicago	1934
Frappier	Montreal	1937
Connaught	Toronto	1948 (from Frappier)
Phipps		1938
Pasteur		Lyophilised 1961

Tabla 1. Cepas y su año de aparición

Evolución genética de las distintas cepas

El primer paso que tuvo lugar en la evolución del BCG fue una delección (única región presente en *M. bovis* y ausente en todas las cepas de BCG: RD1¹). Se especula que debió ser la principal causa de atenuación de la vacuna entre 1908-1921.⁽¹⁾

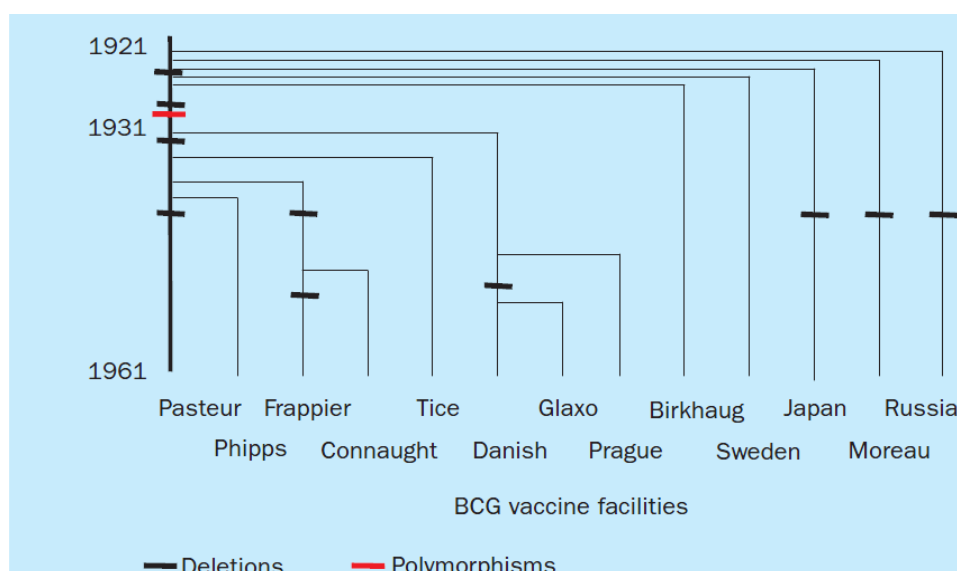


Tabla 2. Genealogía de las cepas de BCG basada en los datos históricos. Se puede observar cómo las cepas actuales difieren de la utilizada en 1921.

1: RD: Regiones diferenciales (Regions of Difference)

En 2007 Brosch et al. publican la secuencia de la cepa BCG Pasteur 1173P2. El genoma de 4,374,522-bp contiene 3,954 genes codificadores de proteínas. 58 de estos se repiten en dos duplicaciones en tándem. Estas dos regiones adquirieron el nombre de DU1 y DU2. La región DU1 solo está presente en la cepa BCG Pasteur, pero la región DU2 está presente en todas las cepas en 4 formas diferentes que nos permite clasificarlas en cuatro grupos de cepas:

- **DU2-I:** Presente en las cepas más tempranas como son Russia, Moreau y Japan. El segmento de 20-kb duplicado ocupa la posición 3,684,229–3,704,932. Russia y Japan tienen 3 duplicaciones de este segmento, mientras que Moreau solo 2.
- Grupos con delección Δ int
 - **DU2-II:** Las cepas Birkhaug y Sweden presentan los mismos patrones entre ellas, pero difieren de los grupos III y IV (cepas más tardías) en que el segmento que alberga la delección Δ int está en otra posición.
 - **DU2-III:** Las cepas Merieux, Prague y Danish albergan 78.5 kb de DNA en su fragmento duplicado, correspondiente a las regiones 3,567,459 –3,608,472 y 3,671,536–3,709,097 (*M. tuberculosis* H37Rv). Esta duplicación es la precursora de DU2-IV.
 - **DU2-IV:** Cepas Pasteur, Tice, Connaught, Frappier, Phipps. Presentan dos duplicaciones de un segmento de 141kb con dos delecciones (una de ellas Δ int)

Como se puede observar, DU2-II, III y IV son similares en cuanto a su estructura genómica, sin embargo DU2-I es algo más diferente. Las vacunas más tempranas (DU2-I) tienen dos o tres copias de los genes *BCG3365–BCG3383*, mientras que las más tardías (DU2-III y IV) tienen dos o tres de *BCG3221c–BCG3260c* y *BCG3356c–BCG3388c*.

Así pues, a lo largo de la evolución de las distintas cepas de BCG han surgido duplicaciones de genes en tándem a raíz de una dura presión de selección. DU2 surge ante la necesidad de crecer en medios con alta concentración de glicerol. Primero como DU2-I, para después perderse y aparecer en forma del precursor de DU2-II, que más tarde sufriría la delección Δ int para convertirse en DU2-II, III y IV, y que daría lugar a las distintas cepas que hoy conocemos. ⁽²⁾

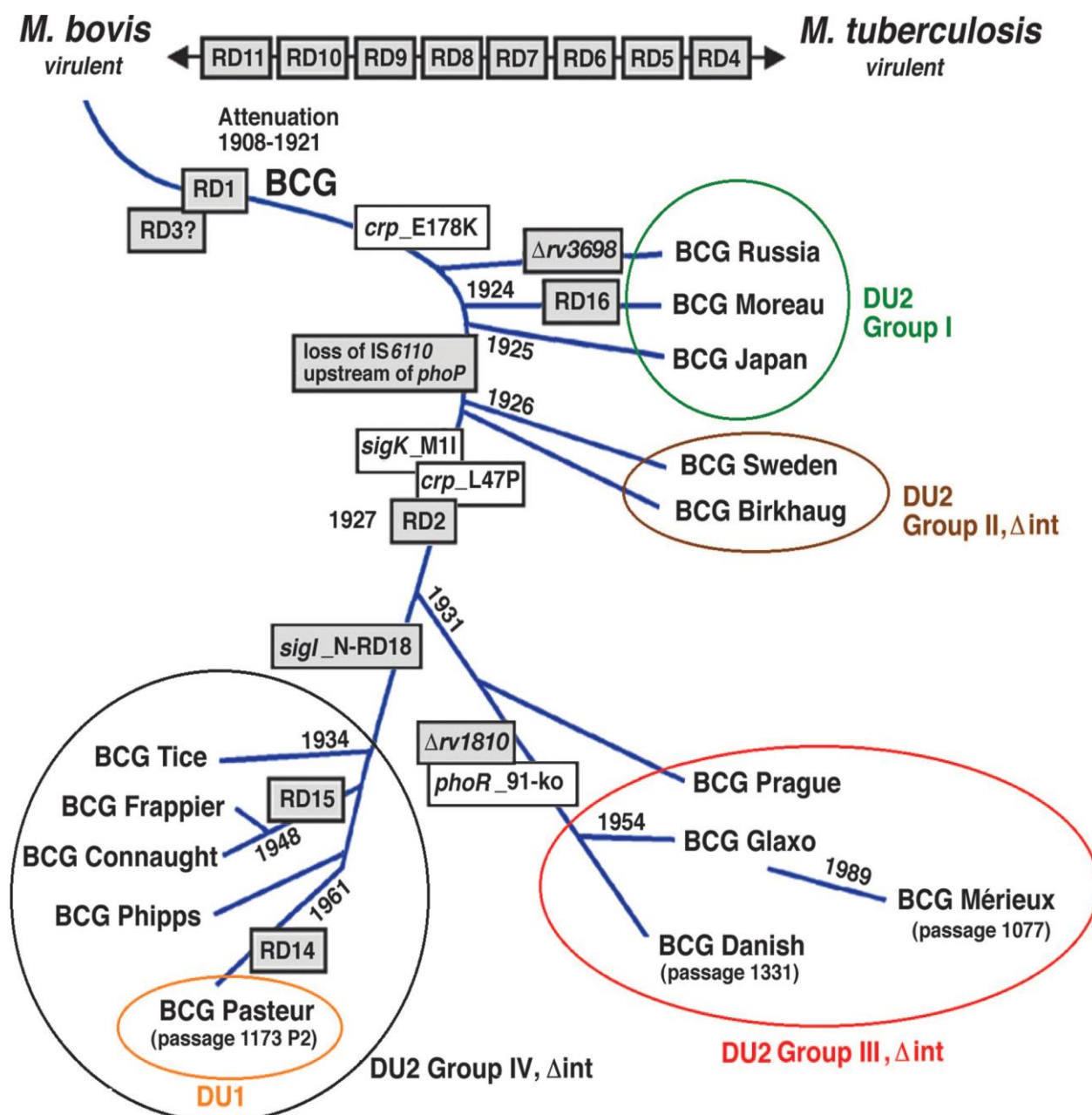


Tabla 3. Genealogía de las cepas. El esquema muestra la posición de los marcadores genéticos, las deleciones que se han ido sucediendo y la distribución de las cepas en los 4 grupos.

Utilidad en el cáncer de vejiga

A final de los años 60 investigadores del NIH (National Institutes of Health) establecieron los criterios de tratamiento con BCG en oncología experimentando en cobayas: tumores pequeños, pacientes inmunocompetentes y cánceres inmunogénicos.

A partir de allí Morales comenzó sus estudios con BCG en el cáncer de vejiga superficial hasta que en 1976 publica su artículo “Intracavitary bacillus calmette-guerin in the treatment of superficial bladder tumors.”, en el cual se analizan los resultados de las instilaciones intravesicales de BCG en 9 pacientes con tumor superficial de vejiga (To-T1), a los cuales divide en dos grupos: aquellos con resección total del tumor por métodos endoscópicos, y aquellos en los que no se ha logrado la ablación total. ⁽³⁾

El resultado del análisis es todo un éxito, que sienta las bases para múltiples estudios posteriores que dan una gran evidencia en la eficacia de este tratamiento. ⁽⁴⁾

Respuesta inmunológica

Pese a llevar más de 30 años usando el tratamiento con BCG, su mecanismo de acción es algo que todavía se halla en constante investigación.

Para una correcta respuesta inmune al tratamiento se necesita un sistema inmune competente, BCG vivos y un contacto cercano entre el BCG y las células tumorales. En esta respuesta participa la inmunidad celular (linfocitos T CD4+ y CD8+, natural killers y granulocitos), la humoral (TRAIL, IL-2, IL-8, IL-12, IL-18, IFN-γ y TNF) y las propias células uroteliales (benignas y malignas).

Immune system component	Evidence for role in response to BCG
Lymphocytes	Lymphocytes are a component of the inflammatory infiltrate in the bladders of patients treated with BCG CD4 ⁺ and CD8 ⁺ T cells are required for response to BCG in the mouse model
NK cells	Infiltration of NK cells in bladder wall of BCG-treated mice NK cells are cytotoxic against BCG-infected bladder cancer cells <i>in vitro</i> NK cells are required for response to BCG in the mouse model
Granulocytes	Granulocytes are the major component of the inflammatory infiltrate in the bladders of patients treated with BCG PMN are required for efficacy of BCG in the mouse model
Macrophages	Macrophages are a component of the inflammatory infiltrate in the bladders of patients treated with BCG BCG-stimulated macrophages are cytotoxic against bladder cancer cells <i>in vitro</i>
Dendritic cells	Immature dendritic cells can be found in the urine of patients treated with BCG <i>In vitro</i> , BCG-exposed dendritic cells can induce T cells to exhibit cytotoxicity against BCG-infected bladder cancer cells
Cytokines and chemokines	Massive release of cytokines and chemokines occurs in urine of patients treated with BCG BCG therapy shifts the urinary cytokine milieu from T _H 2-like to T _H 1-like Augmentation of a T _H 1-like response can improve the efficacy of BCG in the mouse model TRAIL, an apoptosis-promoting protein, is released into the urine of patients treated with BCG, and can kill bladder cancer cells <i>in vitro</i>
Toll-like receptors	TLR 2, 4 and 9 can recognize mycobacterial components and lead to the production of various proinflammatory cytokines TLR 2 and 4 are responsible for release of TRAIL by neutrophils in response to BCG

Abbreviations: NK, natural killer; PMN, polymorphonuclear cells; TRAIL, tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand; TLR, Toll-like receptor

Tabla 4. Células y su papel en la respuesta inmune

Linfocitos

Cuando se analiza la orina tras el tratamiento con BCG se encuentra una mayoría de linfocitos T. Una depleción *in vitro* de linfocitos T ocasiona una no-respuesta inmunológica frente al BCG, por lo que la participación de linfocitos T CD4 y CD8 parece imprescindible, aunque los CD4 se encuentran en mayor número y asumirían el rol principal.

Sin embargo, todavía no se conoce con seguridad cuáles son los antígenos que se presentan a estos linfocitos.

Natural Killers

Son otra importante estirpe de linfocitos en la respuesta frente a BCG. En pruebas *in vitro* muestran citotoxicidad directa frente a las células de ratón infectadas con BCG, y si se eliminan los NKs, se produce una no-respuesta por parte del sistema inmune.

Su activación parece mediada por IL-12 e IFN- γ y se encuentra inhibida por IL-10. Su mecanismo de acción a la hora de eliminar las células malignas es la producción y secreción de perforinas.

Granulocitos

Son la principal estirpe celular encontrada en la pared vesical de los pacientes tratados con BCG, y se asocian a la apoptosis de las células uroteliales. Los PMN estimulados con BCG provocan una quimiotaxis de linfocitos T, y su depleción ocasiona una ausencia de respuesta inmune.

Estos PMN producen IL-8, GRO- α , MIP-1 α , y un ligando que produce citotoxicidad específica llamado TRAIL.

Macrófagos

Se encuentran en gran cantidad en la orina de los pacientes tratados con BCG. In vitro, han demostrado toxicidad contra las células tumorales cuando se estimulan con BCG. Se activan con IL-2, IL-12, IL-18, IFN- γ Y TNF, y se inhiben con IL-10.

Pese a que no se ha demostrado su papel in vivo, un número elevado de macrófagos asociados a las células tumorales previo a la instilación de BCG, es un factor predictivo de recurrencia tras el tratamiento. Se cree que debido a la inmunosupresión producida por estos mediante liberación de IL-10.

Células Dendríticas

Se han postulado como las iniciadoras de la activación de LT tras la instilación de BCG. Sin embargo, su papel en la respuesta inmune no está definido por completo.

Al igual que los macrófagos, un número aumentado de células dendríticas asociadas a células tumorales parece ser un factor predictivo de recurrencia.

Citoquinas

La instilación de BCG provoca un aumento masivo de citoquinas en la orina incluyendo: IL-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, TNF, IFN- γ , GM-CSF (estimulador de crecimiento de colonias de macrófagos y granulocitos), MIP-1 α y TRAIL. ⁽¹⁰⁾

Diversos estudios han tratado de identificar los niveles de interleuquinas como predictores de la respuesta inmune posterior. Unos niveles altos de IL-2 se han asociado con un riesgo disminuido de recurrencia tumoral. Así mismo, Thalmann et al. encontraron que los niveles de IL-8 en orina las 6 primeras horas o los de IL-18 en las 12 primeras tras la instilación de BCG predecían una buena tasa de supervivencia sin recurrencia tumoral. (11)

Otra citoquina muy importante en el proceso inmune es la TRAIL, miembro de la familia de las TNF expresada por NKs, neutrofilos y linfocitos. Esta citoquina induce apoptosis en las células tumorales, pero no en las sanas. Su alta especificidad por las células tumorales, explicaría que un nivel bajo de estas en orina tras la instilación se asocie con la recurrencia del cáncer.

Receptores Toll-Like

Los TLR 2, 6 y 9 se expresan en las células inmunes, y están en relación con la identificación de las micobacterias y la producción de ciertas citoquinas como la TRAIL.

Células uroteliales

Pese a que el papel del sistema inmune es crucial en la respuesta al tratamiento con BCG, las células uroteliales juegan un rol fundamental en la especificidad de acción del BCG, y son la razón por la cual sólo se afectan las células tumorales.

En primer lugar ocurre una fijación entre el BCG y las células uroteliales mediada por la fibronectina. El BCG se une a la fibronectina mediante la FAP (Fibronectin Attachment Protein), y esta, a su vez, se cree que se une a las células uroteliales mediante la integrina $\alpha 5\beta 1$.

Una vez fijada, se produce la internalización celular de la bacteria. Sin embargo, ésta no se produce en todas las células. Solo se produce en aquellas estirpes celulares que sean capaces de realizar el proceso de pinocitosis. En este caso, serán las células tumorales que tengan la presencia de ciertas alteraciones genéticas (deleción de PTEN o mutación activada de la familia RAS de oncogenes). Esto explicaría por qué en algunos pacientes no hay respuesta a la terapia (si las células cancerosas no son capaces de realizar la pinocitosis, la internalización no se produce y no son atacadas por el sistema inmune).

Una vez que la bacteria está en el interior de las células, son éstas las que comienzan a secretar factores de activación inmunocelular. La secreción de IL-6 parece jugar un rol fundamental, y es totalmente dependiente de la internalización del BCG. Sin embargo, las células cancerosas también secretan otros factores como IL-8, GM-CSF o TNF α , que contribuyen a activar el sistema inmune.

Otro mecanismo de activación, parece ser la propia presentación de antígenos por parte de las células tumorales mediante el sistema MHC II y ICAM-1.

Se postula también que la internalización del BCG podría tener efectos citotóxicos per se. In vitro se ha demostrado la reducción de la población celular tras la instilación de BCG sin mediación del sistema inmune. Sin embargo, no todos los estudios concuerdan y es posible que la internalización solo resulte citotóxica en algunas estirpes celulares.

Process	Evidence for role in response to BCG
Attachment of BCG to the urothelium	BCG attaches to urothelial cells through bridging of FAP and Integrin $\alpha 5 \beta 1$ by fibronectin Blocking fibronectin can reduce BCG efficacy in the mouse model
Internalization of BCG by bladder cancer cells	Internalized BCG can be identified in urothelial cells of patients treated with BCG In vitro, bladder cancer cells internalize BCG, while benign urothelial cells do not Uptake of BCG by bladder cancer cells is dependent on activation of macropinocytosis by oncogenic aberrations in PTEN and RAS
Immune system recruitment by bladder cancer cells	Bladder cancer cells secrete IL-6, IL-8, GM-CSF and TNF in response to BCG In vitro, bladder cancer cells can act as antigen-presenting cells after exposure to and internalization of BCG
Direct cytotoxicity of BCG against bladder cancer cells	Reduced proliferation of BCG-exposed bladder cancer cells BCG internalization by bladder cancer cells can result in cell death No evidence currently supports direct cytotoxicity on bladder in vivo
Abbreviations: FAP, fibronectin attachment protein; GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; TNF, tumour necrosis factor	

Tabla 5. Papel de las células uroteliales en la respuesta inmune

Respuesta inmune a nivel sistémico

Se ha demostrado la conversión en el test de la tuberculina (positivización tras instilación en un paciente con mantoux previo negativo) en más de un 40% de los pacientes tratados con BCG. Así mismo, los pacientes tratados con BCG incrementan sus niveles séricos de IL-2 e IFN γ tras la instilación.

A raíz de estos hallazgos se postula si la eficacia del tratamiento podría ser mayor en pacientes previamente inmunizados, con prueba de la tuberculina positiva.

Resumen

Todavía no se sabe a ciencia cierta cómo actúa el sistema inmune en la respuesta al BCG, pero, a día de hoy, se establece el siguiente modelo: El primer paso tras la instilación sería la fijación del BCG a las células del urotelio. Una vez fijado, aquellas estirpes de células malignas que tengan mutaciones en los oncogenes y puedan realizar la pinocitosis, internalizarán las bacterias y expresarán sus antígenos mediante MHC clase II en su membrana a la par que secretan interleuquinas, como IL-6.

Comienza así el reclutamiento de células a la zona, en el que colaboran las células uroteliales sanas y las células dendríticas, liberando citoquinas proinflamatorias y TRAIL.

La respuesta primaria, la realizan los linfocitos Th (Th1 en su mayoría), que contribuyen al reclutamiento de otras células inmunes, como son los granulocitos, seguidos de los macrófagos y los linfocitos.

Finalmente, se produce la toxicidad celular de las células cancerígenas gracias a la activación de NKs y probablemente macrófagos, y a la liberación de factor TRAIL por parte de los PMN. (10)

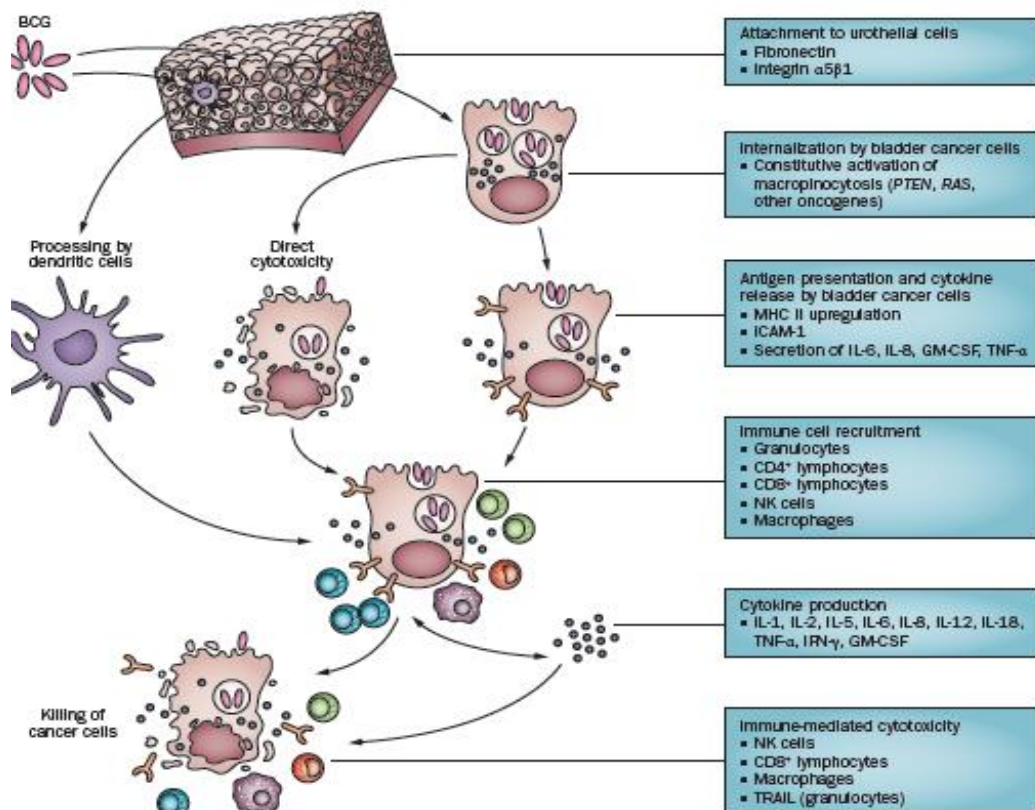


Tabla 6. Modelo de la respuesta inmune tras la instilación de BCG intravesical

Cepas y efectos secundarios

Las diferencias entre las distintas cepas también se han de tener en cuenta a la hora del tratamiento intravesical en el cáncer de vejiga no músculo invasor. A día de hoy, en España se usa sobre todo la cepa Tice y Pasteur (debido a la ausencia de Connaught, que era la que se utilizaba previamente).

Region	BCG strains	Induction regimen	Maintenance recommended?
UK (BAUS guidelines ¹⁵)	Tice, Connaught	One instillation weekly for 6 weeks, followed by a break. At 3 months, one instillation weekly for 3 weeks	One instillation weekly for 3 weeks, maintenance courses at 3, 6, 12, 18, 24, 30, and 36 months
Europe (EAU guidelines ²)	Tice, Connaught	One instillation weekly for 6 weeks	At least 1 year but optimal frequency and duration not defined
USA (AUA guidelines ¹²)	Tice, Connaught	One instillation weekly for 6 weeks	One instillation weekly for 3 weeks, maintenance courses at 3, 6, 12, 18, 24, 30, and 36 months
Tokyo (JUA guidelines ¹⁴)	Tokyo, Connaught	One instillation weekly of Tokyo strain 80mg or Connaught strain 81mg for 6–8 weeks	No consensus on optimal schedule or duration
Canada (CUA guidelines ¹³)	Connaught	One instillation weekly for 6 weeks	One instillation weekly for 3 weeks, maintenance courses at 3, 6, 12, 18, 24, 30, and 36 months

Tabla 7. Cepas y posología empleada según región geográfica

Sin embargo, aunque la existencia de diferencias notables entre las distintas cepas está más que demostrada, todavía no se ha realizado ningún estudio lo suficientemente amplio y estadísticamente significativo en cuanto a qué cepa obtiene unos mejores resultados en el tratamiento del cáncer de vejiga. ⁽¹³⁾

En estudios de factores de virulencia de las diferentes cepas se han identificado dos factores compartidos con *M.tuberculosis* y *M.bovis*, que son de importancia demostrada en la virulencia de estos (al inyectarse en cerdos de guinea variantes con déficit en su síntesis, la respuesta inmune se atenúa notablemente).

Estos son los PDIMs (Phthiocerol dimycocerosate) y los PGLs (phenolic glycolipids). Estos factores se expresan en las cepas BCG Pasteur, Sweden, Denmark, Russia, Birkhaug, Phipps, Frappier, Tice, y Prague, mientras que hay 3 cepas en las cuales no: BCG Japan, Glaxo y Moreau. Si a esto le añadimos que la cepa Japan acumula un nivel bajo de TAGs (triacylglycerol), que ha demostrado elevarse en relación a cepas hipervirulentas de *M.tuberculosis*, podríamos considerarla la menos virulenta de todas. ⁽¹²⁾

Respecto a los efectos secundarios de la instilación vesical con BCG se pueden dividir en:

- Frecuentes: inflamación localizada que puede derivar en cistitis o hematuria
- Poco frecuentes: Fiebre
- Muy raras: Diseminación del bacilo a nivel sistémico, con posible sepsis; respuesta local florida con formación de granulomas y posible fibrosis vesical ⁽¹³⁾

Las muertes originadas por sepsis por BCG y la elevada frecuencia de cistitis inducida por BCG han puesto en peligro el uso de BCG. Sin embargo, al aumentar la experiencia en la aplicación del BCG, se observan efectos adversos graves en menos del 5 % de los pacientes y pueden tratarse con eficacia en casi todos los casos (grado de comprobación científica: 1b). ⁽¹⁴⁾

Tras la absorción sistémica del medicamento pueden surgir complicaciones importantes. Por tanto, no debe administrarse BCG durante las dos primeras semanas después de una RTU, a los pacientes con hematuria ni tras un sondaje traumático. ⁽⁶⁾

En estos aspectos, las cepas también muestran diferencias entre ellas. Por ejemplo, la liberación de IL-8 se ha correlacionado con un mayor aumento de PMN en la zona tumoral, que aumenta la respuesta inmune y disminuye el riesgo de diseminación sistémica, por lo que la diferencia de producción de IL-8 de las diferentes cepas puede tener relevancia clínica.

Así pues, se ha comprobado que las cepas BCG Moscow, Phipps o Connaught producen una mayor respuesta IL-8 dependiente que otras como Glaxo o Tice. No se conoce muy bien este mecanismo, pero no

parece correlacionarse con la producción o no de PDIMs (Tice y Connaught producen y generan diferente respuesta) o con el grupo DU (Moscow es una cepa temprana DU-I y Connaught es una tardía DU-IV).⁽¹³⁾

Un estudio en fase 3 comparando BCG Connaught vs Tice demostró una mayor tasa de supervivencia libre de recurrencias en pacientes tratados con cepa Connaught (75%) que con Tice (46%) con una $P < 0.002$.⁽¹⁶⁾

Respecto a los efectos secundarios también se observan diferencias según la cepa utilizada. En vacunación por vía oral (no así en instilación vesical) se observó una mayor incidencia de osteítis media con BCG Moscow y de absceso faríngeo con Pasteur o Copenhagen, pero ninguno de estos fue observado en vacunación con cepa Moreau. Así pues, podemos concluir que, basándonos en la experiencia en la vacunación de TBC, las cepas mas reactogénicas (y con más efectos secundarios) son Russia, Sweden, Copenhagen y Pasteur, mientras que Tokyo, Moreau, Glaxo y Prague lo serían mucho menos.⁽¹⁵⁾

En cuanto a instilación vesical se tienen menos datos. Un estudio en Sudáfrica objetivó un aumento de la incidencia de enfermedad diseminada a raíz del cambio de tratamiento con cepa Japan a Copenhagen.⁽¹⁷⁾

Una vez más, queda claro que las diferencias entre las diferentes cepas existen, pero son necesarios más estudios a la hora de concluir cuál es la más eficaz, y la que menos efectos secundarios tiene.⁽¹³⁾

Indicaciones de BCG intravesical

Indicado en todo aquel tumor vesical no musculo infiltrante (véase To-T1) Con riesgo medio o alto de progresión como terapia adyuvante tras resección tumoral transuretral:

- Tumores de medio riesgo de progresión (puntuación 2-6) y alto de recidiva (puntuación 5-9)
- Tumores de alto riesgo de progresión (puntuación >6).

Factor	Recidiva	Progresión
Número de tumores		
Único	0	0
2-7	3	3
≥ 8	6	3
Diámetro del tumor		
< 3 cm	0	0
≥ 3 cm	3	3
Frecuencia de recidiva anterior		
Primario	0	0
≤ 1 recidiva/año	2	2
> 1 recidiva/año	4	2
Categoría		
Ta	0	0
T1	1	4
CIS concomitante		
No	0	0
Si	1	6
Grado (OMS de 1973)		
G1	0	0
G2	1	6
G3	2	5
Puntuación total	0-17	0-23

Tabla 8. Tabla de la EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) para la estadificación del tumor de vejiga no músculo infiltrante

A fin de obtener una eficacia optima, el BCG ha de administrarse en una pauta de mantenimiento (grado de comprobación científica: 1a). Sin embargo, no existe un esquema de BCG óptimo establecido. ⁽⁷⁾

Se ha de iniciar al menos dos semanas después de la RTU, y se suele comenzar con 6 instilaciones semanales de inducción, y más tarde ciclos según pauta. La pauta puede variar desde un total de 10 instilaciones en 18 semanas a 30 instilaciones en 3 años. El número óptimo de instilaciones, su frecuencia y su duración sigue sin conocerse a ciencia cierta, pero a raíz de la respuesta inmunitaria intravesical, se cree que 3 instilaciones semanales logran una respuesta máxima. ⁽⁶⁾

Como pauta de referencia, aunque no haya evidencia clara de que sea superior, se admite el de Lamm, que consistiría en emplear ciclos de 3 instilaciones semanales a los 3 y 6 meses, y luego cada 6 meses. ⁽⁸⁾

La dosis óptima de BCG no ha sido identificada; sin embargo, la dosis estándar se ha establecido en 120 mg por sesión de instilación con la que se logra obtener una cifra de 10^6 unidades formadoras de colonia, reportada como la dosis mínima de efectividad terapéutica.

La aplicación debe realizarse mediante colocación de sonda de forma atraumática, instilándose la dosis de BCG mezclada con 50mL de

solución salina al 0,9%. El paciente ha debido orinar previamente y se debe mantener con la instilación en el interior de la vejiga durante dos horas, haciendo rotaciones sobre sí mismo (prono, lateral, supino, lateral) cada 15 minutos a fin de que el bacilo entre en contacto con la totalidad del epitelio vesical. ⁽⁹⁾

Problemas de abastecimiento

El 1 de julio de 2012 el suministro normal del medicamento Immu-Cyst BCG Inmunoterapéutica (marca comercial de la cepa Connaught) quedó interrumpido a raíz de una inspección de la *Food and Drug Administration* (FDA) al fabricante (Sanofi Pasteur Limited, Toronto, Canadá). Hasta ese momento, era la cepa con mayor distribución a nivel mundial, y la de primera elección en muchos países, entre ellos España.

En España los suministros se han intentado paliar con los otros dos productos comercializados: OncoTICE (cepa Tice) y Vejicur (cepa RIVM derivada de la Pasteur). Sin embargo, aún juntando los dos productos, el abastecimiento sigue siendo insuficiente, por lo que la asociación española de urología ha tenido que emitir un consenso con nuevas indicaciones para el BCG hasta que el problema del abastecimiento se solucione.

A la hora de tratar el cáncer no musculo-invasor tras la resección transuretral hemos de conocer los distintos tratamientos disponibles. Múltiples estudios han demostrado la superioridad del BCG en tumores de medio y alto riesgo, pero en casos de ausencia de este hemos de recurrir a los otros tratamientos, que aún obteniendo resultados inferiores en cuanto a tasa de recurrencia pueden ser de gran utilidad:

- *IPOP (instilación postoperatoria)*: indicada en tumores de bajo grado. En los de alto podría ser beneficiosa en casos de ausencia de BCG. Se realiza con instilación intravesical de mitomicina o epirrubicina tras la RTU.
- *MMC (mitomicina)*: pese a ser inferior al tratamiento intravesical con BCG, puede suponer un buen sustituto en los casos en los que no dispongamos de BCG. Se recomienda comenzar con un régimen intensivo de inducción con 6-8 instilaciones semanales (40mg de MMC en 40cc de suero salino) y posteriormente seguir

un régimen mensual de mantenimiento. No ingerir líquidos las 8 horas antes, e ingerir 1g de bicarbonato la noche anterior, una hora antes y 30 minutos tras la instilación.

- *BCG*: Es el tratamiento de elección para los tumores de riesgo medio o alto de progresión. En caso de abastecimiento escaso, se deberá priorizar aquellos de alto riesgo de progresión, debiendo ensayar con otros tratamientos en los de riesgo medio. Tras la inducción con dosis total, se puede reducir a un tercio la dosis para el mantenimiento (a fin de ahorrar medicamento), e incluso se puede ensayar con un tratamiento mixto de BCG y MMC (6 instilaciones de MMC de inducción, seguidas de 10 instilaciones de mantenimiento alternas de MMC y BCG a dosis plena)

Dicho esto, las indicaciones de tratamiento según el estadio del tumor y la disponibilidad o no de BCG serían las siguientes:

- *Bajo riesgo de progresión*:
 - *Riesgo de recidiva bajo*: no necesario tratamiento adyuvante, suficiente con IPOP
 - *Riesgo de recidiva intermedio*: estaría indicada QT intravesical
- *Medio riesgo de progresión (2-6 EORTC)*
 - *Riesgo de recidiva intermedio (1-4)*: QT con MMC o epirrubicina (2da opción, 50 mg en 50cc) 4-6 meses si hubo IPOP, 12 si no la hubo.
 - *Riesgo de recidiva alto (5-9)*: Tratamiento con BCG en el caso de que haya disponibilidad de este con inducción a dosis plena y mantenimiento con un tercio de ésta. En el caso de que no la haya, QT con MMC o epirrubicina.
- *Alto riesgo de progresión (>7 EORTC)*: el tratamiento con BCG es prioritario. Si no se dispone de este, estaría indicada la cistectomía en algunos casos.
 - *Progresión 7-13*: con disponibilidad de BCG, se trataría con éste en monoterapia o en combinación con MMC según disponibilidad. En caso de ausencia se realizaría QT con MMC según el esquema de Stasi (40mg en 10cc de agua bidestilada durante 30 min).
 - *Progresión >13*: con disponibilidad de BCG, se utilizaría este como tratamiento a dosis plena. Sin disponibilidad, estaría

indicada la cistectomía, siendo posible el tratamiento con QT solo en casos muy seleccionados. ⁽⁵⁾

Disponibilidad de BCG	Clasificación tumoral (tablas de la EORTC)/riesgos (EAU)			
	Medio riesgo de progresión Riesgo de progresión (5 años): 6% (5-8%) Puntuación para progresión: 2-6		Alto riesgo de progresión Riesgo de progresión (5 años) > 17% (14-55%) Puntuación para progresión > 6	
Parcial	Medio riesgo de recidiva: Puntuación para recidiva: 1-4 Riesgo de recidiva 5 a: 40% (42-49%) Ta-1G1-2 + 1 factor - Recidivante - ≥ 3 cm - Multifocal (< 8 t)	Medio-alto riesgo de recidiva: Puntuación para recidiva: 5-9 Riesgo de recidiva 5 a: 62% (58-65%) Ta-1G1-2 multifocal (> 8 t) Ta-1G1-2 + 2 factores - Recidivante - ≥ 3 cm - Multifocal (< 8 t)	Puntuación para progresión: 7-13 Riesgo de progresión 5 a: 17% (14-20%) Ta-1G1-2 multifocal (> 8 t) + un factor: - Recidivante - ≥ 3 cm Ta-1G1-2 + 3 factores - Recidivante - ≥ 3 cm - Multifocal (< 8 t)	Puntuación para progresión > 13 Riesgo de progresión 5 a: 45% (35-55%) Ta-1 G3/ Tis ± factores asociados
	QT ^a Con IPOP: 4-6 meses Sin IPOP: 12 meses	BCG ^b Inducción (dosis total o 1/3) + mantenimiento (dosis total o 1/3) durante un año	Opciones: 1.° BCG inducción (dosis total) + mantenimiento (dosis total o 1/3) ^b durante un año 2.° Solo inducción (dosis total) ^b 3.° MMC y BCG ^b alternantes ^c	Opciones ^f : 1.° BCG inducción (dosis total) + mantenimiento (dosis total o 1/3) ^b durante un año 2.° MMC y BCG alternantes ^c 3.° Cistectomía inmediata (T1G3 con HD, UP o 2 factores de riesgo) ^g
Ninguna		QT ^a Con IPOP: 4-6 meses Sin IPOP: 12 meses	Opciones: 1.° EMDA ^d 2.° QT ^a durante 12 meses	Opciones ^f : 1.° Cistectomía inmediata (T1G3 con un factor de riesgo) ^g 2.° EMDA ^{d,4} 3.° QT ^a durante 12 meses

^a QT adyuvante con MMC o epirrubina: es recomendable un régimen intensivo inicial con 6-8 instilaciones semanales y luego un mantenimiento mensual. Se recomienda no ingerir líquidos en las 8 h anteriores y 1 g de bicarbonato la noche anterior, por la mañana y 30' tras cada instilación de MMC. En pacientes en los que la QT no hubiera sido efectiva previamente y ante la falta de disponibilidad de BCG, podrían valorarse otros fármacos si estuvieran disponibles (gemcitabina, valrubicina, etc.).

^b En caso de no haber BCG disponible para todos los pacientes con tumores de medio y alto riesgo de progresión se reservaría para los tumores con más alto riesgo.

^c MMC y BCG alternantes: 6 instilaciones de MMC (40 mg en 40 cc de salino), seguidas por 10 instilaciones mensuales en las que se alterna MMC y BCG (dosis completa).

^d EMDA con mantenimiento: 6 instilaciones semanales de MMC (40 mg en 100 cc de agua bidestilada durante 30' a 20 mA) y luego una instilación mensual durante 10 meses.

^e Factores de riesgo en T1G3: hidronefrosis (HD), afectación de la uretra prostática (UP), T1b, Tis, T1G3 amplio en reRTU, multifocalidad, tumor > 3 cm.

^f Imprescindible la ReRTU y control de la respuesta a los 3 meses.

^g Pacientes para conservación vesical en alto riesgo (sin BCG): mal estado general o negativa del paciente a realizar cistectomía.

Tabla 9. Resumen de recomendaciones ante la poca disponibilidad de BCG. Se deberían extremar las indicaciones de ReRTU y extender el empleo de quimioterapia postoperatoria (IPOP). Además es imprescindible un control riguroso y reevaluación de cistectomía precoz en alto riesgo ante fallo del tratamiento inicial

Nuevas cepas

A pesar de su eficacia, la terapia intravesical con BCG se asocia a múltiples efectos secundarios y, en determinadas ocasiones, a fallos en el tratamiento. Es por ello que en los últimos años se han llevado a cabo múltiples intentos para mejorarlo. Los avances más recientes se enfocan en el BCG recombinante, que consiste en modificar el BCG de tal manera que solo ataque a una diana determinada.

Actualmente se encuentran dos estrategias: la basada en inducir respuesta de los linfocitos Th1 (componente fundamental de la respuesta inmune tras la instilación de BCG) y la que solo utiliza componentes aislados de la bacteria original (membrana celular, subunidades proteicas...).

Para inducir la respuesta en linfocitos Th1 se utilizan diversas técnicas:

- r-BCG inductora de IL2: Ha demostrado proliferación de LTh1 in vitro e in vivo, así como la de NKs y monocitos.
- r-BCG inductora de IL12: Se ha observado una mejor respuesta a IL-12 en animales, sin embargo, no se correlaciona con los estudios realizados en personas.
- r-BCG inductora de IL18: Su estimulación provoca un aumento de la toxicidad de los macrófagos y del IFN- γ , así como una disminución en la producción de IL-10.
- r-BCG inductora de IFN- α y γ : Ambos parecen inducir una respuesta linfocítica in vitro, pero solo se ha demostrado in vivo en el IFN- γ .

En cuanto a los componentes aislados, el más utilizado en el subcomponente de membrana celular (MCW). Se ha visto que inducen una menor toxicidad y, por tanto, tienen muchos menos efectos adversos.

Pese a ser todavía líneas de investigación abiertas, ambas estrategias de r-BCG parece que van a aportar mucho en un futuro. Los inductores de respuesta específica linfocítica Th1 podrían jugar un papel esencial en aquellos pacientes refractarios a tratamiento, mientras que los basados en subcomponentes celulares podrían tenerlo en aquellos que no toleren los efectos secundarios del BCG. ⁽¹⁸⁾

Strain	Cytokine/antigen	Route
<i>Th1 cytokine-based rBCG</i>		
IL-2-based rBCG	IL-2	<i>In vitro/in vivo</i>
IL-12-based rBCG	IL-12	<i>In vitro</i>
IL-18-based rBCG	IL-18	<i>In vitro</i>
IFN- α -based rBCG	IFN- α	<i>In vitro</i>
IFN- γ -based rBCG	IFN- γ	<i>In vitro/in vivo</i>
PT-based rBCG	PT	<i>In vitro/in vivo</i>
<i>BCG subcomponent-based rBCG</i>		
MCWE	Mycobacterial cell wall	Clinical trial
MCC	Mycobacterial cell wall	Clinical trial
BCG-CWS	BCG cell wall	<i>In vitro</i>
R8-liposome-BCG-CWS	BCG cell wall	<i>In vitro/in vivo</i>
CWS-NP	BCG cell wall	<i>In vitro/in vivo</i>
Ag85B-based rBCG	Ag85B	<i>In vitro</i>
Mpt-64-based rBCG	Mpt-64	<i>In vitro/in vivo</i>
PstS1-based rBCG	PstS1	<i>In vitro/in vivo</i>
rBCG-DNA vaccines	Ag85A, Ag85B, Mpt-64, PstS1	<i>In vitro/in vivo</i>
rBCG: Recombinant BCG.		

Tabla 10. Estrategias actuales de BCG recombinante en el cancer de vejiga

Conclusión y perspectivas

Tras más de 30 años de uso, la inyección intravesical de BCG sigue siendo la terapia adyuvante de elección en los tumores de vejiga no músculo invasores de medio y alto riesgo. Es, en la actualidad, la única inmunoterapia que se ha demostrado efectiva contra el cáncer y ha sentado las bases para futuras investigaciones en otros tipos de tumores.

Sin embargo, no está exenta de problemas. Los molestos efectos secundarios y los fallos del tratamiento han hecho que la investigación con BCG este en constante movimiento. A este respecto, el futuro parece dirigirse a las cepas de BCG recombinante, pese a que todavía se encuentran en una fase temprana de la investigación.

La falta de abastecimiento a raíz del cierre de la fábrica productora de la cepa BCG-Connaught ha supuesto otro gran problema a la hora de su administración. En este punto, sería prioritario el reabastecimiento de cepa Connaught, o en su defecto, el aumento de la producción de cepas BCG-Tice o BCG-Pasteur.

La poca homogenización a nivel global de las cepas utilizadas y su posología representan una dificultad a la hora de obtener resultados significativos en la investigación con BCG. Sin embargo, la inmunoterapia es un campo abierto a múltiples oportunidades y nuevas indicaciones, y, sin duda, va a seguir concentrando mucha atención por parte de la comunidad científica en los próximos años.

Bibliografía

- 1- Behr MA. BCG—different strains, different vaccines? *Lancet Infect Dis*. 2002 Feb;2(2):86-92.
- 2- Brosch R, Gordon SV, Garnier T, Et al. Genome plasticity of BCG and impact on vaccine efficacy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007 Mar 27;104(13):5596-601. Epub 2007 Mar19.
- 3- Morales A, Eidinger D, BruceW. Intracavitary bacillus calmette-guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *The journal of urology*. 1976 Aug;116(2):180-3.
- 4- Sylvester RJ, Van Der Meijden AP, Lamm DK. Intravesical bacillus calmette-guerin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *J Urol*. 2002 Nov; 168(5):1964-70.
- 5- Fernandez-Gomez JM, Carballido-rodriguez J, Cozar-olmo JM, Et al. Tratamiento del tumor vesical no músculo infiltrante frente al problema de disponibilidad de bacilo Calmette-Guerin. Consenso de un panel de expertos españoles. *Actas Urol Esp*. 2013; 37(7):387-394.
- 6- Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, et al. Guía clínica del carcinoma urotelial de vejiga no músculo-invasivo de la Asociación Europea de Urología. Actualización de 2011. *Actas Urol Esp*. 2012;36:389-402.
- 7- Bohle A, Bock PR. Intravesical bacillus Calmette-Guerin versus mitomycin C in superficial bladder cancer: formal meta-analysis of comparative studies on tumor progression. *Urology* 2004 Apr;63(4):682-7.
- 8- Lamm DL, Blumenstein BA, Crissman JD, Montie JE, Gottesman JE, Lowe BA, et al. Maintenance bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for recurrent TA, T1 and carcinoma in situ transitional cell carcinoma of the bladder: a randomized Southwest. Oncology Group Study. *J Urol*. 2000;163:1124-9.
- 9- Manzanilla-García HA, Maldonado-Ávila M, Aguilar-Barradas J, Et al. Inmunoterapia con el bacilo de Calmette-Guérin en el tratamiento del carcinoma superficial de vejiga. *Rev Mex Urol* 2009;69(6):307-313
- 10-Redelman-Sidi G, Glickman MS, Bochner BH. The mechanism of action of BCG therapy for bladder cancer--a current perspective. *Nat Rev Urol*. 2014 Mar;11(3):153-62.
- 11-Thalmann, G. N. *et al*. Urinary Interleukin-8 and 18 predict the response of superficial bladder cancer to intravesical therapy with bacillus Calmette-Guerin. *J Urol* 2000 164, 2129–2133.
- 12-Chen JM, Islam ST, Ren H, Et al. Differential productions of lipid virulence factors among BCG vaccine strains and implications on BCG safety. *Vaccine* 2007 Nov 23; 25(48):8114-22.
- 13-Gan C1, Mostafid H, Khan MS, et al. BCG immunotherapy for bladder cancer- the effects of substrain differences. *Nat Rev Urol*. 2013 Oct; 10(10):580-8.
- 14-van der Meijden AP, Sylvester RJ, Oosterlinck W, Hoeltl W, Bono AV; EORTC Genito-Urinary Tract Cancer Group. Maintenance bacillus Calmette-Guerin for Ta, T1 bladder tumors is not associated with increased toxicity: results from a European Organisation for Research

- and Treatment of Cancer Genito-Urinary Group Phase III Trial. *Eur Urol* 2003 Oct;44(4):429-34.
- 15-Liu, J., Tran, V., Leung, A. S., Alexander, D. C. & Zhu, B. BCG vaccines: their mechanisms of attenuation and impact on safety and protective efficacy. *Hum Vaccin* 2009 5, 70–78.
- 16-Birkhaeuser, F., Rentsch, C., Studer, U., Albert, M. & Thalmann, G. A randomized phase III study comparing Immucyst® versus Oncotice®: the BCG strain used makes a difference. *J Urol* 2012.187, e676.
- 17-Hesseling AC. Danish bacille Calmette-Guerin vaccine-induced disease in human immunodeficiency virus-infected children. *Clin Infect* 2003. 37, 1226–1233.
- 18-Wang Y, Yang M, Yu Q, Yu L, Shao S and Wang X. Recombinant bacillus Calmette-Guerin in urothelial bladder cancer immunotherapy: current strategies. *Expert Rev Anticancer Ther* 2015;15(1), 85–93.